

**CONTROLE BIOLÓGICO****Localização e Aceitação de Dieta Artificial Contendo Feromônio Sexual pelo Predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae)**

MIRYAN D. A. CORACINI<sup>1</sup>, EVALDO F. VILELA<sup>1</sup>, PAULO DE MARCO JÚNIOR<sup>2</sup>,  
JOSÉ C. ZANUNCIO<sup>1</sup> E MIRIAN F. FURTADO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa,  
36571-000, Viçosa, MG.

<sup>2</sup>Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa,  
36571-000, Viçosa, MG.

---

An. Soc. Entomol. Brasil 28(4): 687-693 (1999)

Location and Acceptance of Artificial Diet with Sexual Pheromone  
by the Predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae)

**ABSTRACT** - A mass rearing program of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) is under development at the Federal University of Viçosa, MG, Brazil, aiming to release this predaceous insect for the control of caterpillars in *Eucalyptus* reforestation areas. As the location and acceptance of the artificial diet by *P. nigrispinus* needs to be improved, we tested the effect of the addition of its synthetic sex pheromone to the diet. We impregnated diets, inside and/or outside, with the complete pheromone blend, with the three main components (α-terpineol, benzyl alcohol, and (E)-2-hexenal), as well as with trans-piperitol, and compared the development of insects fed on artificial and natural (*Musca domestica* L. alive larvae) diets. Attraction of second instar nymphs of *P. nigrispinus* to artificial diets was enhanced by the addition of the sex pheromone blend compared with the plain diet, both after five and 120 min on the diet. However, none of the pheromone added diets were as attractive to *P. nigrispinus* as the housefly larvae diet. Increase in weight was greater for nymphs fed on diet with the three major components of the pheromone, as well as with trans-piperitol or housefly larvae diet, and they averaged 1.40, 1.35 and 1.30 mg, respectively. On the other hand, plain diet and diet with the addition of the whole pheromone blend showed the smallest increase in nymph weight (0.37 and 0.6 mg, respectively). The results also demonstrated that sex pheromone of *P. nigrispinus* can improve feeding stimulation on nymphs, proven to be of some value in the location process of artificial food by the species.

**KEY WORDS:** Insecta, predatory bug, feeding stimulation.

**RESUMO** - Estudou-se o efeito da adição do feromônio sexual sintético de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) na localização e aceitação da dieta artificial utilizada para criação do inseto em laboratório. Avaliou-se o efeito do feromônio sexual completo, dos três componentes que ocorrem em maior proporção no feromônio [α-terpineol, fenilmetanol e (E)-2-

hexenal] e de um dos componentes que ocorrem em menor proporção no feromônio (trans-piperitol) sobre a dieta, comparados à dieta pura e a larvas de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). A atração de ninfas de segundo ínstar de *P. nigrispinus* à dieta artificial foi facilitada pela presença do feromônio sexual adicionado à mesma, sendo que a dieta com feromônio completo mostrou maior atratividade que a dieta pura após cinco ou 120 min do oferecimento da dieta. Porém, larvas de *M. domestica* foram, na maioria das vezes, mais atrativas que os demais tratamentos. O ganho de peso foi significativamente maior para ninfas alimentadas com dieta com os três componentes majoritários, dieta com trans-piperitol e larvas de *M. domestica*, apresentando peso médio de 1,4 mg, 1,35 mg e 1,3 mg, respectivamente. *P. nigrispinus* apresentou menor ganho de peso com dieta pura e dieta com feromônio completo, com ninfas pesando 0,37 mg e 0,6 mg, respectivamente. Os resultados demonstraram que os componentes do feromônio utilizados causaram efeito fagoestimulante sobre o predador *P. nigrispinus*, e que podem atuar auxiliando estes insetos no processo de localização do alimento.

**PALAVRAS-CHAVE:** Insecta, percevejo predador, fagoestimulantes.

A liberação inundativa ou inoculativa de inimigos naturais, como predadores, exige sua criação massal em condições controladas, e dentre os fatores que podem limitar esta criação inclui-se a produção também massal de hospedeiros. A existência de uma dieta artificial que substitua esses hospedeiros é, muitas vezes, fundamental para viabilizar economicamente a liberação dos inimigos naturais em condições de campo (De Clercq & Degheele 1992).

Dietas artificiais têm sido utilizadas para a criação de vários parasitóides e predadores com sucesso (Vanderzant 1974). Para algumas espécies de heterópteros, a utilização de dieta artificial tem possibilitado seu desenvolvimento, porém com significativo prolongamento no período de desenvolvimento ninfal (Cohen 1985, Adidharma 1986, De Clercq & Degheele 1992, Saavedra 1995). Apesar de estas dietas satisfazerem as necessidades nutricionais básicas dos heterópteros, elas apresentam o problema adicional da sua baixa aceitação.

O estudo de heterópteros predadores como agentes de controle biológico de insetos-praga tem recebido ênfase nos programas de

controle biológico, com destaque para *Podisus nigrispinus* (Dallas) (= *Podisus connexivus* Bergroth), *Brontocoris tabidus* (= *Podisus nigrolimbatus* Spinola) e *Supputius cincticeps* Stal (Heteroptera: Pentatomidae) (Zanuncio et al. 1993). A carência de informações sobre estes heterópteros tem motivado estudos sobre aspectos biológicos, substrato alimentar e metodologia de criação em laboratório, visando a liberação massal desses indivíduos em condições de campo (Zanuncio et al. 1994).

*P. nigrispinus* pode ser mantido em laboratório durante gerações contínuas em dieta artificial, oferecida sob a forma de lagartas artificiais, confeccionadas envolvendo-se a dieta em pedaço de parafilm, segundo técnica desenvolvida por Saavedra (1995). Há uma preocupação em melhorar a localização e aceitação desta dieta por estes predadores, pois as lagartas de dieta artificial além de não apresentarem movimentos, até o momento não exalam substâncias que podem ser utilizadas como cairomônios. Os predadores, muitas vezes, utilizam-se de estímulos químicos, como odores fagoestimulantes, além de estímulos físicos no

processo de procura e aceitação da presa (Waldbauer & Friedman 1991).

Estudos têm sido realizados com o feromônio sexual de *P. nigrispinus* no intuito de promover a manipulação do comportamento destes insetos no campo, pois este feromônio está envolvido com a ampla dispersão destes insetos no meio ambiente (Aldrich 1995). Sabe-se que o feromônio sexual emitido pelo macho de *P. maculiventris* atrai não apenas fêmeas mas, também, ninfas da espécie, atuando como um feromônio de agregação (Aldrich 1995). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo verificar o efeito da adição do feromônio sexual de *P. nigrispinus* na localização e aceitação da dieta artificial.

### Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Feromônios de Insetos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sob  $26,3 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ,  $71 \pm 10\%$  UR e 12 h de fotofase. O feromônio sexual sintético utilizado foi proveniente do *Insect Chemical Ecology Laboratory, USDA-ARS*.

O predador *P. nigrispinus* foi obtido da criação massal do Laboratório de Controle Biológico de Insetos da UFV, sendo utilizadas ninfas de segundo ínstar, pois a espécie não apresenta hábito predatório no primeiro (Zanuncio *et al.* 1993). As ninfas foram individualizadas em placas de Petri plásticas (9,0 x 1,2 cm), contendo algodão umedecido em seu interior. Após 24 h sem alimentação, cada ninfa recebeu larvas de *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) ou uma lagarta artificial (LA) contendo a dieta proposta por Saavedra (1995).

Os tratamentos utilizados foram: DN = larvas de *M. domestica*, DA = LAs; FC = LAs com feromônio sexual completo; TRE = LAs com apenas os três componentes majoritários [a-terpineol, fenilmetanol e (E)-2-hexenal] e PI = LAs com apenas um dos menores componentes (trans-piperitol).

Foi utilizada a concentração de 0,05mg do feromônio por ml do solvente diclo-

rometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Com o auxílio de uma micropipeta, foram aplicados 5 ml de solução de feromônio por lagarta artificial, quantidade equivalente a 10% do peso da mesma, de acordo com metodologia utilizada por Torres *et al.* (1997). Os componentes do feromônio sintético foram aplicados (i) externamente, (ii) internamente e (iii) interna + externamente à dieta. Após o feromônio ser adicionado à dieta fresca ou descongelada, a mesma permaneceu sob temperatura ambiente durante três horas para possibilitar a evaporação do solvente quando, então, foram preparadas as LAs. Aguardou-se, novamente, três horas antes de oferecê-las aos insetos ou de congelá-las.

Avaliações foram realizadas após cinco e 120 min do oferecimento das dietas, seguindo a metodologia utilizada por Torres *et al.* (1997). Este intervalo de tempo foi utilizado visando observar se após apenas cinco minutos, os percevejos seriam capazes de localizar e iniciar a alimentação e, se após 120 min, eles estariam ainda continuando a se alimentar. As ninfas foram pesadas após 24 h do início do experimento, visando avaliar o ganho de peso das mesmas nos diferentes tratamentos.

Utilizaram-se quinze ninfas individualizadas para os tratamentos DN e DA e 45 ninfas para os demais tratamentos, em delineamento inteiramente casualizado. O número de ninfas diferiu entre os tratamentos, pois para aqueles contendo feromônio foram fornecidas 15 LAs com feromônio aplicado externamente, 15 LAs com feromônio aplicado internamente e 15 LAs com feromônio aplicado externa e internamente. Como não houve diferença estatística entre o local de aplicação do feromônio (teste de Tukey,  $P > 0,05$ ), estas ninfas foram agrupadas para efeito das análises.

O número de ninfas que se alimentou das dietas foi submetido à análise de  $\chi^2$  ( $P = 0,05$ ), enquanto o peso das ninfas após 24 h foi submetido à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P = 0,05$ ). Esta comparação visou medir o efeito posterior da alimentação nas dietas sobre um parâmetro dos insetos que as receberam.

## Resultados

Após cinco minutos do início do experimento, maior número de ninfas localizou e iniciou a alimentação em larvas de *M. domestica*, do que em dieta artificial pura. A dieta contendo o feromônio completo mostrou maior atratividade que a dieta pura, dieta com os três componentes majoritários e dieta com o trans-piperitol (Tabela 1 e Fig. 1).

com o trans-piperitol. A dieta com feromônio completo foi bem mais atrativa que a dieta pura e a dieta com os três componentes majoritários (Tabela 1 e Fig. 1). Assim, constatou-se que, após 120 min, houve maior número de ninfas alimentando-se em todos os tratamentos, quando comparado com o início do experimento.

O ganho de peso foi significativamente maior para ninfas alimentadas com dieta com

Tabela 1. Análise comparativa ( $\chi^2$ ,  $P < 0,05$ ,  $gl=1$ ) da quantidade de ninfas de segundo ínstar de *P. nigrispinus* alimentando-se, após cinco e 120 min, em larvas de *M. domestica* (DN), dieta artificial pura (DA), dieta com feromônio completo (FC), dieta com três componentes majoritários (TRE) e dieta com trans-piperitol (PI).  $26,3 \pm 0,1^\circ\text{C}$  (E.P.),  $71 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12h.

FV	5 min		120 min	
	$\chi^2$	p	$\chi^2$	P
DN x DA	9,6	< 0,05	2,4	> 0,05
DA x FC	8,4	< 0,05	5,0	< 0,05
FC x TRE	8,3	< 0,05	20,2	< 0,05
FC x PI	22,6	< 0,05	2,8	> 0,05

Decorridos 120 min, não houve diferença entre larvas de *M. domestica* e dieta pura, ou entre dieta com o feromônio completo e dieta

os três componentes majoritários, dieta com trans-piperitol e larvas de *M. domestica*, apresentando peso médio de 1,4 mg, 1,35 mg

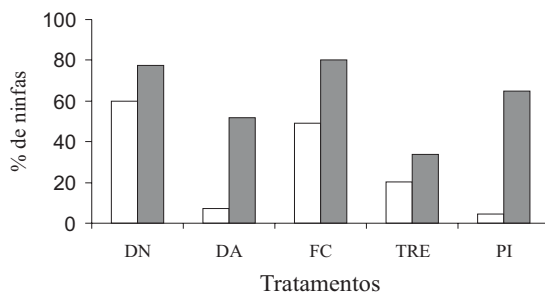


Figura 1. Quantidade de ninfas de segundo ínstar de *P. nigrispinus* que localizaram e iniciaram alimentação em larvas de *M. domestica* (DN), dieta artificial pura (DA), dieta com feromônio completo (FC), dieta com três componentes majoritários (TRE) e dieta com trans-piperitol (PI), após cinco minutos (□) e 120 min (▨) de exposição ao alimento. ( $n=15$  para DN e DA, e  $n=45$  para os demais tratamentos), a  $26,3 \pm 0,1^\circ\text{C}$  (E.P.),  $71 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12h.

e 1,3 mg, respectivamente, após alimentarem-se por 120 min. *P. nigrispinus* apresentou menor ganho de peso com dieta pura e dieta com feromônio completo, com ninfas pesando 0,37 mg e 0,6 mg, respectivamente (Fig. 2).

Apesar de um maior número de ninfas ter localizado a dieta com feromônio completo, o ganho de peso destas ninfas esteve entre os menores (Fig. 2).

Saavedra *et al.* (1992) constataram um efeito fagoestimulante causado pelo acréscimo de macerado de lagartas do lepidóptero *Bombyx mori* (L.) à dieta artificial de *P. connexivus*. Estudos realizados com *Riptortus clavatus* Thunberg (Heteroptera: Alydidae) (Leal *et al.* 1995) e com *P. maculiventris* (Aldrich 1995), evidenciaram a possibilidade de o feromônio sexual liberado pelo inseto atuar sobre indivíduos da mesma

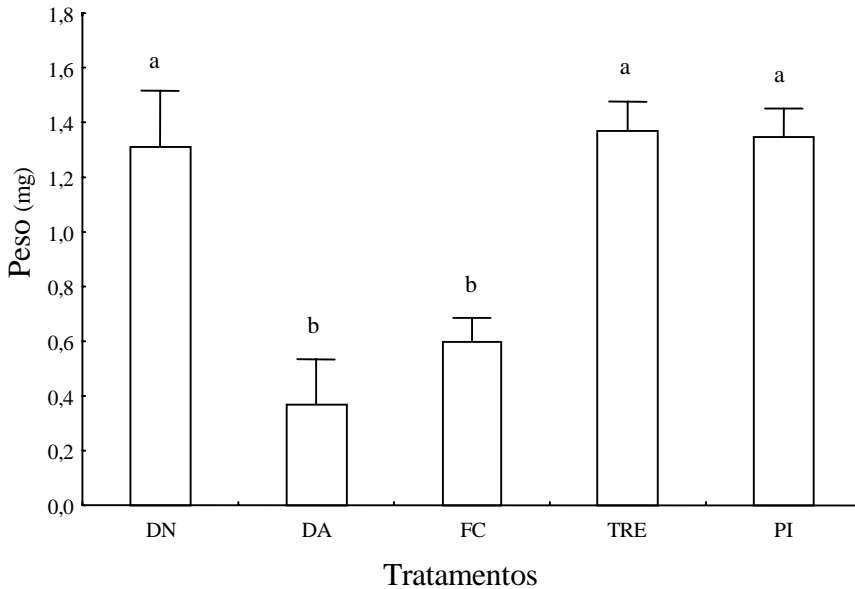


Figura 2. Ganho médio de peso (mg) em ninfas de segundo ínstar de *P. nigrispinus*, após 120 min de exposição a larvas de *M. domestica* (DN), dieta artificial pura (DA), dieta com feromônio completo (FC), dieta com três componentes majoritários (TRE) e dieta com trans-piperitol (PI). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. Barras representam o erro-padrão da média.  $26,3 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  (E.P.),  $71 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12h.

### Discussão

No processo de seleção do hospedeiro ou presa, os inimigos naturais podem ser atraídos por odores produzidos pela planta hospedeira do inseto herbívoro, por produtos de fermentação da planta hospedeira, ou por substâncias químicas liberadas pela presa ou hospedeiro (Lagenheim 1994).

espécie, jovens ou adultos. Dessa forma, a presença destes compostos químicos poderia estar relacionada com a disponibilidade de alimento no ambiente, facilitando o encontro de locais mais propícios ao desenvolvimento dos coespecíficos.

Neste trabalho, comprovou-se que a atração de ninfas de segundo ínstar de *P. nigrispinus* à dieta artificial foi facilitada pela

presença do feromônio sexual adicionado 'a mesma, o que indica que as ninfas utilizaram semioquímicos de adultos coespecíficos para localizar o alimento, evitando, dessa forma, maior gasto de energia e tempo no processo de procura do alimento.

Apesar de a dieta contendo feromônio completo ter tido sua atratividade a *P. nigrispinus* aumentada, estes insetos não tiveram ganho de peso compatível com a dieta pura. Duas hipóteses podem explicar este fato. A primeira é que, possivelmente, a dieta artificial não possui, ainda, qualidade nutricional adequada para manter o crescimento. Alternativamente, é possível que os componentes do feromônio utilizado não tenham sido capazes de fazer os insetos alimentarem-se de forma continuada. Dessa forma, a adição do feromônio sexual à dieta foi eficiente na estimulação da alimentação para *P. nigrispinus*, porém, há necessidade de estudos visando verificar a ação destes semioquímicos no desenvolvimento e fecundidade do predador, que são fatores de grande importância a serem avaliados antes da utilização de um inimigo natural em programas de controle biológico.

#### Agradecimentos

À CAPES pela bolsa concedida ao primeiro autor e ao CNPq pelas bolsas concedidas ao segundo e quarto autores. Ao Dr. Jeffrey R. Aldrich, do USDA-ARS, Beltsville, Maryland, USA, pela cessão das substâncias químicas e aconselhamentos.

#### Literatura Citada

- Adidharma, D. 1986.** The development and survival of *Podisus sagittus* (Hemiptera: Pentatomidae) on artificial diets. *J. Aust. Entomol. Soc.* 25: 15-16.
- Aldrich, J.R. 1995.** Chemical communication in the true bugs and parasitoid exploitation, p. 318-363. In: R. T. Carde & W. J. Bell (eds.). *Chemical ecology of insects II*. New York: Chapman & Hall, 433 p.
- Cohen, A.C. 1985.** Simple method for rearing the insect predator *Geocoris punctipes* (Heteroptera: Lygaeidae) on a meat diet. *J. Chem. Ecol.* 78: 1173-1175.
- De Clercq, P. & D. Degheele. 1992.** A meat-based diet for rearing the predatory stinkbugs *Podisus maculiventris* and *Podisus sagitta* (Heteroptera: Pentatomidae). *Entomophaga* 37: 149-157.
- Lagenheim, J.H. 1994.** Higher plant terpenoids: a phyto-centric overview of their ecological roles. *J. Chem. Ecol.* 20: 1223-1280.
- Leal, W.S., H. Higuchi, N. Mizutani, H. Nakamori, T. Kadosawa & M. Ono. 1995.** Multifunctional communication in *Riptortus clavatus* (Heteroptera: Alydidae): conspecific nymphs and egg parasitoid *Oencyrtus nezarae* use the same adult attractant pheromone as chemical cue. *J. Chem. Ecol.* 21: 973-985.
- Saavedra, J.L.D. 1995.** Dieta artificial para o predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) e influencia na sua capacidade de predação de *Anticarsia gemmatalis* Hubner. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 128 p.
- Saavedra, J.L.D., J.C. Zanuncio, T.M.C. Della Lucia & F.P. Reis. 1992.** Efeito da dieta artificial na fecundidade e fertilidade do predador *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Heteroptera: Pentatomidae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 21: 69-76.
- Torres, J., J.C. Zanuncio, J.L.D Saavedra & J. Aldrich. 1997.** Extrato da glândula de feromônio na atração e estimulação alimentar de ninfas de *Podisus nigrispinus* (Dallas) e *Supputius*

*cincticeps* (Stal). An. Soc. Entomol. Brasil 26: 463-469.

**Vanderzant, E.S.** 1974. Development, significance, and application of artificial diets for insects. Annu. Rev. Entomol. 19: 139-160.

**Waldbauer, G.P. & S. Friedman.** 1991. Self-selection of optimal diets by insects. Annu. Rev. Entomol. 36: 43-63.

**Zanuncio, T.V., J.C. Zanuncio, G.C.G. de Oliveira & R.C. Sartorio.** 1993.

Influencia da densidade populacional na criaVão, em laboratório, de ninfas de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). Rev. Ceres 40: 94-103.

**Zanuncio, J.C., J.E.M. Leite, G.P. Santos & E.C. Nascimento.** 1994. Nova metodologia para criaVão em laboratório de hemipteros predadores. Rev. Ceres 41: 88-93.

Recebido em 29/12/97. Aceito em 31/08/99.

---